

## REVISION DE TEMAS

# Discinesia ciliar primaria o síndrome de cilios inmóviles Estado actual

Orlando Torres<sup>1</sup>, Gerzaín Rodríguez<sup>2</sup>

El síndrome de Kartagener es una enfermedad hereditaria caracterizada clínicamente por la presencia de *situs inversus*, bronquiectasias y sinusitis recurrente, triada reconocida desde 1933, cuando se describió la entidad en Austria (1).

La microscopía electrónica permitió establecer una relación patogénica entre esta sintomatología y defectos en la ultraestructura de los cilios del epitelio respiratorio. Inicialmente, la disfunción se interpretó como resultado de la ausencia en los cilios de ganchos de dineína, proteína con actividad de ATPasa, esencial para el movimiento ciliar y cuya ausencia desencadenaría las manifestaciones clínicas del síndrome (2).

Igualmente, se comprobó que la esterilidad masculina en pacientes con síndrome de Kartagener, se debe a la inmovilidad de los espermatozoides explicada por la carencia de dineína en el axonema (3). Así se consolidó la base bioquímica del síndrome como el resultado de la deficiencia en la síntesis de una molécula proteica (4). El síndrome de Kartagener es, por tanto, un típico ejemplo de enfermedad molecular. Algunos estudios sugieren diferente regulación genética para la dineína de los cilios y del flagelo del espermatozoide (5).

Una vez aceptado que la anomalía ciliar origina los signos y síntomas del síndrome en el sistema respiratorio, se encontró que no todos los pacientes con disfunción ciliar son afectados

por *situs inversus*. La transposición de vísceras se presenta apenas en el 50% de ellos. Esto motivó la designación de un nuevo nombre, a saber, "síndrome de cilios inmóviles" (6), que combina las infecciones respiratorias crónicas con la esterilidad masculina como consecuencia de axonemas anormales, en cilios y flagelos, respectivamente, con o sin *situs inversus*.

Actualmente existe la tendencia a utilizar la expresión "discinesia ciliar primaria" para agrupar un conjunto heterogéneo de anomalías respiratorias hereditarias, fundamentado en defectos ultraestructurales de los cilios y que es diferente de otras enfermedades respiratorias (7).

Con relación al *situs inversus*, Afzelius (8) sugirió que éste se produce como consecuencia de la incapacidad para sintetizar dineína, manifestada desde el desarrollo del embrión. Según el autor, los cilios del epitelio embrionario se localizan en una posición definida y la dirección de su movimiento en alguna forma determina la localización de las vísceras. Cuando hay batido ciliar en el embrión, éstas se distribuyen normalmente. Si no hay movimiento ciliar, la distribución visceral se define al azar. Como consecuencia, aproximadamente un 50% de los individuos presentará *situs inversus*, mientras que el 50% restante exhibirá una distribución normal.

### Estructura normal de los cilios

Los cilios son organelos celulares móviles recubiertos por la membrana celular, formados por nueve pares de túbulos periféricos y un par central (patrón 9+2). Se originan en un centríolo o cuerpo basal (figura 1). Están presentes en plantas inferiores y en todo el reino animal desde los protozoarios hasta el hombre (4). Tienen

<sup>1</sup> Biólogo, Laboratorio de Patología, INS.

<sup>2</sup> Coordinador de Investigaciones, Laboratorio de Patología, INS; Profesor Titular de Cátedra, Departamento de Patología, Facultad de Medicina, Universidad Nacional de Colombia.

Proyecto 21014-2

como funciones principales: la limpieza de superficies, el transporte de gametos y productos de excreción, el movimiento y circulación de fluidos en algunas cavidades corporales, el intercambio respiratorio de gases y la captura, filtración y absorción de alimentos; las dos últimas funciones se llevan a cabo en sistemas primitivos de vida.

En corte transversal, un cilio consiste esencialmente de la envoltura externa o membrana celular y el axonema compuesto por un conjunto de nueve pares de microtúbulos periféricos y un par central, todos ellos interconectados entre sí por puentes de proteínas (figura 1). Estos últimos desempeñan un papel importante tanto en la conformación estructural de los cilios como en los mecanismos que permiten el movimiento de los mismos (9).

Los flagelos tienen la misma estructura básica de los cilios, de los cuales difieren por su mayor longitud, hasta de 150 micras y por el reducido número en cada célula (1 a 4), mientras que los cilios tienen 6-10 micras de longitud y hay hasta 300 cilios por cada célula.

La estructura básica de los cilios es la misma en todos los eucariotes (4). De hecho, un modelo para la investigación lo ofrecen las algas verdes flageladas del género *Chlamydomonas*. Se descubrieron mutantes inmóviles de estos organismos originados en alteraciones de sus flagelos (10), antes de que se estableciera la relación patogénica entre los defectos ultraestructurales de los cilios y el síndrome de cilios inmóviles en el hombre, y no es aventurado sugerir que esta observación haya promovido la búsqueda de alteraciones homólogas en los humanos. En el hombre hay células ciliadas en el tracto respiratorio, oído interno, conducto faringotimpánico (trompa de Eustaquio), trompa uterina, endometrio, conductillos eferentes del testículo, epitelio olfatorio y células endociliares. Los conos y bastones de la retina son cilios altamente modificados.

#### **Alteraciones ultraestructurales de los cilios**

El microscopio electrónico permite observar los siguientes tipos de anomalías en los cilios, cuando se analizan cortes transversales.

#### **A. Cambios morfológicos que afectan a toda la estructura ciliar**

1. Fusión de cilios adyacentes que dan lugar a cilios compuestos (figura 2) (7, 11, 12).
2. Exceso de citoplasma dentro del cilio (figura 2) (13).
3. Ausencia de cilios (14).

#### **B. Cambios morfológicos de los microtúbulos**

4. Alteración del patrón (9+2) de distribución de los microtúbulos (9), por desplazamiento de la posición normal ya sea de una dupleta periférica o del par central.
5. Orientación al azar de los microtúbulos (6, 15, 16).
6. Alteración del número de pares de microtúbulos, ya sea por carencia o exceso de una dupleta o presencia de túbulo supernumerario aislado (figura 3) (5, 7, 9).
7. Ausencia de axonema (17).

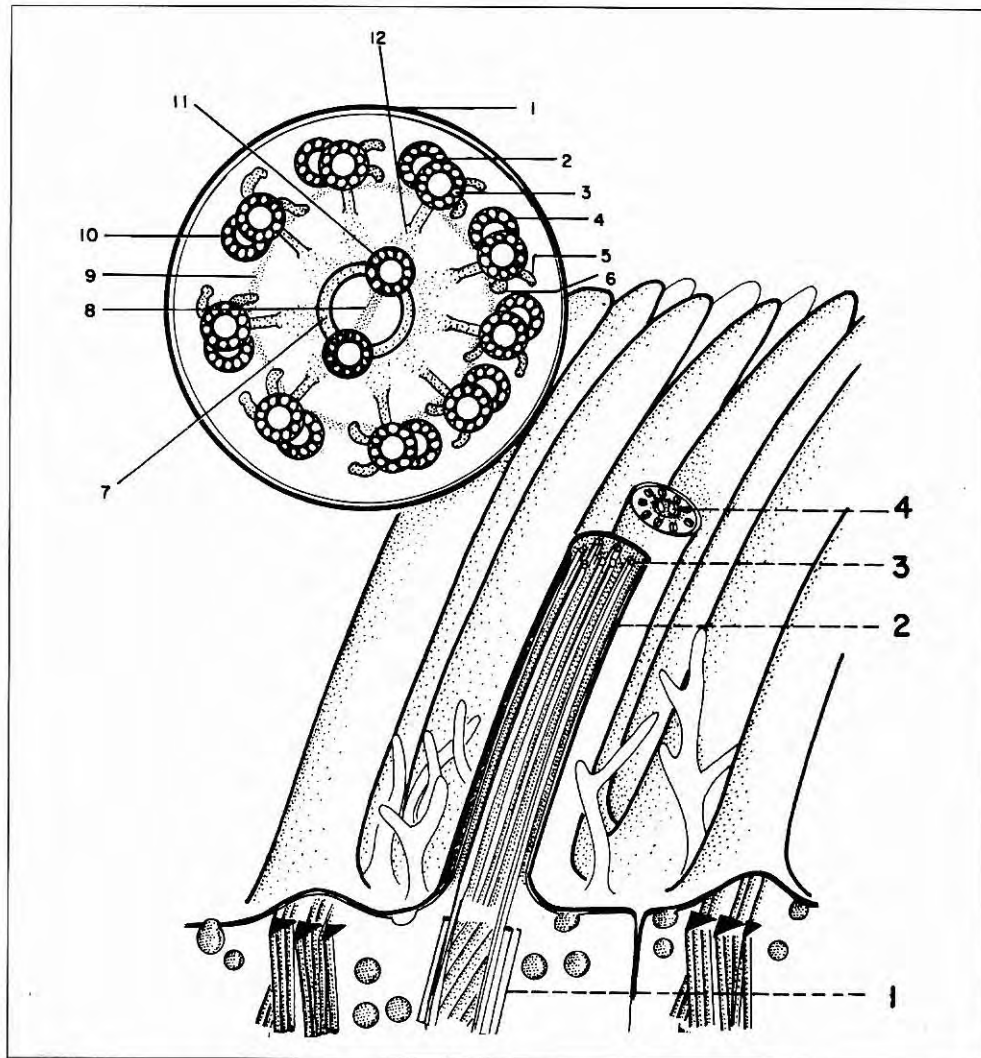
#### **C. Falta de puentes proteicos en el axonema**

8. Ausencia de brazos de dineína (figura 3) (5, 8, 14).
9. Ausencia de puentes radiales (9, 14, 18).
10. Ausencia de puentes de nexina (9).

#### **Interpretación de los cambios ultraestructurales de los cilios en el diagnóstico de discinesia ciliar primaria**

Los primeros estudios de la estructura ciliar fina, en pacientes con síndrome de cilios inmóviles, hacen énfasis en la carencia de brazos de dineína como la principal característica anormal (6). Posteriormente, se consideró que el síndrome es el producto de diversas alteraciones estructurales de los cilios, pero con manifestaciones clínicas idénticas (5, 9).

Investigaciones recientes (7, 14, 16) tienden a demostrar que sólo la ausencia de ganchos de dineína se puede considerar como factor determinante y genéticamente consolidado dentro de las diferentes alteraciones ultraestructurales propuestas para la discinesia ciliar.



**Figura 1.** Diagrama que ilustra parte de la superficie de una célula ciliada.

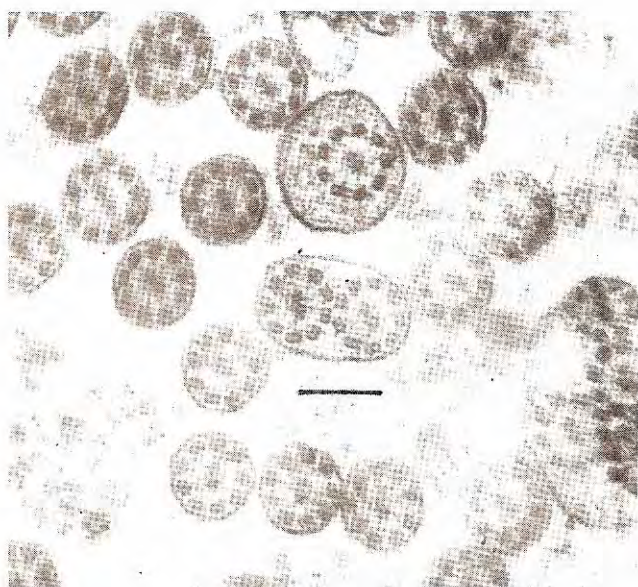
Tomado y modificado de: Fawcett D. The cell. Philadelphia: W.B. Saunders Co., 1981; Krstić R. Ultrastructure of the mammalian cell. Berlin: Springer, 1979.

1. Cuerpo basal (centríolo)
2. Envoltura del cilio (membrana celular)
3. Dupleta de microtúbulos periféricos
4. Dupleta central

Arriba a la izquierda, esquema de un corte transversal de un cilio

- |                             |                     |
|-----------------------------|---------------------|
| 1. Envoltura                | 7. Vaina central    |
| 2. Dupleta periférica       | 8. Puente central   |
| 3. Subunidad A              | 9. Puente de nexina |
| 4. Subunidad B              | 10. Protofilamentos |
| 5. Brazo externo de dineína | 11. Dupleta central |
| 6. Brazo interno de dineína | 12. Puente radial   |





**Figura 2.** Electromicrografía de cilios en corte transversal de una biopsia bronquial tomada a un paciente con discinesia ciliar. Se observa un cilio con exceso de matriz citoplasmática y un cilio compuesto con dos axonemas. La barra indica 0,2 micras.



**Figura 3.** Electromicrografía de un cilio de la mucosa bronquial de un paciente con discinesia ciliar. Una de las dupletas periféricas se ha desplazado hacia el centro y falta el par central. Nótese la ausencia de brazos de dineína. La barra indica 0,05 micras.

Los cilios con exceso de citoplasma y los cilios compuestos se describen con alguna frecuencia en pacientes con diferentes enfermedades del tracto respiratorio; sin embargo, en cada caso, estos defectos morfológicos se observan en muy baja proporción (12, 15). La ausencia de cilios se ha informado en muy pocas oportunidades y junto con los casos anteriores, se consideran como características secundarias adquiridas induci-

das por diversos factores (11, 14, 19), reversibles, y cuyo ejemplo especial es la metaplasia escamosa respiratoria.

Las alteraciones microtubulares no son específicas para discinesia ciliar primaria, pues se presentan también en otras condiciones patológicas del sistema respiratorio e inclusive es posible hallarlas en personas normales (7, 11, 14, 16), incluyendo fumadores (20). La ausencia de

axonema (17) es un caso raro descrito en un paciente con síndrome de Kartagener.

La carencia de puentes radiales, hasta ahora considerada como una anomalía congénita, determinada por un patrón de herencia autosómica recesiva, está relacionada con la alteración en la organización microtubular del axonema (18). Recientemente, se ha cuestionado el carácter genético de esta anomalía debido a que se halló con igual frecuencia en pacientes con discinesia ciliar primaria y en pacientes con otras enfermedades respiratorias (7). Además, en un caso interpretado inicialmente como síndrome de Kartagener, un paciente a quien se le describió falta de puentes radiales en los cilios de una biopsia de tráquea, exhibió cilios normales al estudiar una biopsia nasal (14).

#### **Criterios para diagnóstico de discinesia ciliar primaria**

Lurie y col. (7) proponen los siguientes criterios para considerar un caso como discinesia ciliar primaria, es decir, determinado genéticamente:

1. Cuadro clínico característico de anomalías respiratorias: bronquiectasias, sinusitis, otitis media y pólipos nasales.
2. Dextrocardia.
3. Un promedio inferior a dos ganchos de dineína por cada cilio que se examine ultraestructuralmente en corte transversal.
4. Frecuencia del batido ciliar menor de 10 Hz (ciclos/seg). Según los autores, la manifestación de la condición descrita en el numeral 1, acompañada de, por lo menos, una de las condiciones establecidas en los numerales 2-4, constituyen suficiente evidencia para diagnosticar discinesia ciliar primaria.

En un reciente simposio de especialistas se acordaron los siguientes preceptos para reconocer una anomalía en los cilios como causa de discinesia ciliar primaria, teniendo en cuenta el carácter sistémico y permanente de esta enfermedad genética (14):

1. Una anomalía específica debe afectar a todos los cilios en una misma muestra.

2. La misma anomalía debe demostrarse en los cilios de una muestra tomada de otro sitio.
3. La anomalía se debe reconocer nuevamente en otra muestra que se tome en un tiempo prudencial posterior.

#### **Toma y procesamiento de muestras para estudio de alteraciones ultraestructurales de los cilios**

Tradicionalmente, la biopsia nasal y la biopsia bronquial han sido utilizadas como fuente para la obtención de epitelio ciliar destinado al estudio ultraestructural (5, 8, 18, 21). Estos procedimientos invasivos, están siendo reemplazados por muestras tomadas mediante cepillado nasal, método descrito en detalle por Rutland y Cole y que, en términos generales, se resume así (22):

Inicialmente se lleva a cabo una limpieza de la nariz para eliminar el exceso de secreciones. Se introduce un otoscopio en una de las fosas nasales para dejar expuesto el cornete. A través del otoscopio se inserta un cepillo citológico de 2 mm de diámetro, el cual se introduce entre el cornete inferior y la pared nasal lateral. Con el cepillo se efectúa un movimiento rápido de 1 cm a lo largo de la parte posterior de la superficie mucosa y, luego, de regreso a la parte anterior para extraerlo. El material celular que se adhiere al cepillo se desprende mediante agitación del mismo en un medio líquido para cultivo celular, dentro del cual se incrementa la cantidad de tejido que se debe procesar para estudio ultraestructural. De no ser posible el cultivo celular, la muestra se puede colocar directamente en el fijador para microscopía electrónica.

El cepillado nasal es menos traumático que la biopsia y, por tanto, es posible usarlo en niños muy pequeños (9). El epitelio respiratorio obtenido por esta técnica permite la cuantificación de la frecuencia del movimiento ciliar *in vitro* (7), evita los riesgos de los procedimientos efectuados con anestesia general y produce mejor calidad y mayor efectividad en la obtención de la muestra (14).

Para el estudio de cilios por microscopía electrónica, cualquiera que sea el espécimen tomado, se debe colocar inmediatamente en un fijador



adecuado. No existe un procedimiento de fijación estandarizado, pues en la literatura se recomiendan diversas variantes para el tratamiento inicial de la muestra. Las etapas posteriores a la fijación corresponden a los protocolos normales para microscopía electrónica.

La tradicional doble fijación con glutaraldehído y tetróxido de osmio seguida por tinción en bloque con acetato de uranilo (7); la utilización de  $MgSO_4$  2 mM en glutaraldehído (16), y la combinación de glutaraldehído con ácido tánico (21), en estos dos últimos casos, seguida también por la fijación con tetróxido de osmio y, eventualmente, tinción en bloque, son los tratamientos más empleados al iniciarse la preparación del material para estudio ultraestructural.

Se considera que la adición de  $MgSO_4$  al fijador permite visualizar mejor los brazos de dineína (12, 16), mientras que el ácido tánico hace posible observar los protofilamentos de los microtúbulos, además de los brazos de dineína (21, 23). No obstante, en publicación reciente (14) se afirma que la utilización de tales sustancias no parece tener un efecto notorio sobre las imágenes de los brazos de dineína que se observan en las micrografías electrónicas.

### Conclusiones

1. En casos diagnosticados clínicamente como discinesia ciliar primaria, los hallazgos ultraestructurales que describan anomalías ciliares, deben ser de carácter sistémico y permanente.
2. El cepillado de la parte posterior de la mucosa nasal se recomienda para llevar a cabo un examen inicial en un caso sospechoso de discinesia ciliar primaria.
3. Se sugiere estudiar muestras del epitelio ciliar de diferentes sitios del tracto respiratorio, para confirmar las anomalías ultraestructurales de los cilios. En pacientes masculinos postpubertales se debe tomar, además, una muestra de semen para estudio del axonema del espermatozoide.
4. Se recomienda repetir el estudio de los cilios, en un tiempo prudencial posterior según criterio del médico.

5. Se sugiere efectuar una observación del movimiento ciliar al momento de tomar la muestra y, si es posible cuantificar la frecuencia del mismo.
6. Un espécimen tomado para estudio ultraestructural se debe colocar inmediatamente en un fijador adecuado para microscopía electrónica, preparado en el laboratorio que realice el estudio y llevar la muestra al mismo lugar en el menor tiempo posible.

### Agradecimientos

A la bacterióloga Gloria Patricia Barrera por la colaboración prestada para la elaboración de este informe.

### Referencias

1. Rott HD. Kartagener's syndrome and the syndrome of immotile cilia. *Hum Genet* 1979;46:249.
2. Pedersen H, Mygind N. Absence of axonemal arms in nasal mucosa cilia in Kartagener's syndrome. *Nature* 1976;262:494.
3. Afzelius BA, *et al.* Lack of dynein arms in immotile human spermatozoa. *J Cell Biol* 1975;66:225.
4. Fawcett DW. What makes cilia and sperm tails beat?. *N Engl J Med* 1977;297:46.
5. Lungarella G, Fonzi L, Burrini AG. Ultrastructural abnormalities in respiratory cilia and sperm tails in a patient with Kartagener's syndrome. *Ultrastruc Pathol* 1982;3:319.
6. Eliasson R, *et al.* The immotile-cilia syndrome. *N Engl J Med* 1977;297:1.
7. Lurie M, *et al.* Ciliary ultrastructure in primary ciliary dyskinesia and other chronic respiratory conditions: the relevance of microtubular abnormalities. *Ultrastruc Pathol* 1992;16:547.
8. Afzelius BA. A human syndrome caused by immotile cilia. *Science* 1976;193:317.
9. Schneeberger EE, *et al.* Heterogeneity of ciliary morphology in the immotile-cilia syndrome in man. *J Ultrastruc Res* 1980;73:34.
10. McVittie A. Flagellum mutants of *Chlamydomonas reinhardtii*. *J Gen Microbiol* 1972;71:525.
11. McDowell EM, *et al.* Abnormal cilia in human bronchial epithelium. *Arch Pathol Lab Med* 1976;100:429.
12. Fox B, Bull TB, Arden GB. Variations in the ultrastructure of human nasal cilia including abnormalities found in retinitis pigmentosa. *J Clin Pathol* 1980;33:327.